

## 《技術報告》

## モノクローナル抗体を利用した新しい血清 Tissue Polypeptide Antigen (TPA) 測定キットの基礎的および臨床的検討

下城 恵子\* 渡辺 直行\* 酒井さおり\* 小林真理恵\*  
 大竹 英則\* 羽鳥 昇\* 深沢 和浩\*\* 富吉 勝美\*\*\*  
 井上登美夫\*\*\* 遠藤 啓吾\*\*\*

**要旨** 新しいモノクローナル抗体を利用したヒト血清 Tissue Polypeptide Antigen (TPA) 濃度測定用 Immunoradiometric Assay (IRMA) キットプロリフィゲン TPA-M “第一” (TPA-M) が開発された。新しい TPA-M キットは、従来と比べて TPA 濃度の測定範囲も広げられ、インキュベーション時間は2時間に短縮された。臨床症例の検討では、転移性悪性疾患症例において血清 TPA の陽性率が高く、しかも、血清 TPA 濃度も高い傾向を認めること、そして悪性腫瘍の治療効果判定に利用できる可能性が示唆された。この新しく開発された TPA-M キットによる血中 TPA 濃度の測定は臨床で広く利用されると期待される。

(核医学 33: 655-661, 1996)

## I. はじめに

Tissue Polypeptide Antigen (TPA) は癌関連抗原の1つとして1957年 Björklund らにより同定がされ、その本質はサイトケラチンの一種で、腫瘍組織に比較的共通に存在する<sup>1,2)</sup>。今日、TPA は、Carcinoembryonic antigen (CEA) や、 $\alpha$ -fetoprotein (AFP) などの腫瘍マーカーと共に、悪性腫瘍の補助診断および治療の経過観察で臨床的に利用されている。

今回新しく複数のモノクローナル抗体を使用したプロリフィゲン TPA-M “第一” キットが開発さ

れ<sup>3-7)</sup>、その TPA-M キットを用いてアッセイの基礎的検討を行うと共に、悪性腫瘍を中心とした血中 TPA 濃度測定の臨床的検討を行ったので報告する。

## II. 対象および方法

## 1. 対象

悪性腫瘍症例 85 例 (女性 39 名, 男性 46 名, 平均年齢 61.8 歳, 33~85 歳) うち原発性肝細胞癌 29 例, 転移性肝細胞癌 12 例, 原発性肺癌 8 例, 転移性肺癌 6 例, その他原発性悪性腫瘍 20 例 (直腸癌 3 例, 胃癌 3 例, 卵巣癌 5 例, 乳癌 2 例, 子宮体癌 2 例, 悪性胸腺腫 1 例, 悪性リンパ腫 1 例, 食道癌 1 例, 脳腫瘍 1 例, 脾臓癌 1 例), 原発不明の転移性悪性腫瘍 10 例 (リンパ節転移 3 例, 腹膜転移 2 例, 骨転移 5 例)。良性疾患 91 例 (女性 44 名, 男性 47 名, 平均年齢 54.5 歳, 20~85 歳) うち腎不全 36 例, 肺疾患 16 例 (肺結核 6 例, 胸腺腫 2 例, 間質性肺炎 2 例, 肉芽腫 2 例, 珪肺 1 例, 気管支炎 1 例, サルコイドーシス 1 例, 巨大嚢胞 1 例), 肝疾患 16 例 (脂

\* 群馬大学医学部附属病院中央放射線部  
核医学診断部門

\*\* 多野総合病院

\*\*\* 群馬大学医学部核医学教室

受付: 8 年 1 月 12 日

最終稿受付: 8 年 4 月 15 日

別刷請求先: 群馬県前橋市昭和町 3-39-15 (☎ 371)

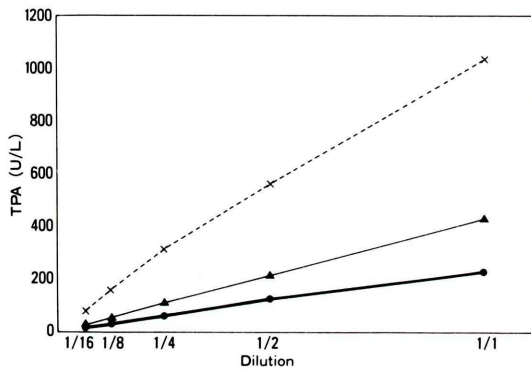
群馬大学医学部附属病院

中央放射線部核医学診断棟

大竹 英 則

**Table 1** Intraassay and interassay reproducibility by TPA-M

Intraassay reproducibility (n=10)			
	Mean (U/l)	S.D.	C.V. (%)
Serum A	134.04	3.26	2.43
B	301.57	9.65	3.20
C	983.30	16.54	1.68
Interassay reproducibility (n=5)			
	Mean (U/l)	S.D.	C.V. (%)
Serum A	127.94	2.48	1.94
B	301.42	7.68	2.55
C	936.86	35.11	3.75

**Fig. 1** Dilution curve of three different sera with high TPA values. (high TPA concentration, ×; middle TPA concentration ▲; low TPA concentration, ●)

肪肝 2 例, 肝硬変 8 例, 肝血管腫 1 例, 慢性肝炎 4 例, 肝内結石症 1 例, 婦人科系疾患 9 例 (子宮筋腫 6 例, 子宮内膜症 2 例, 卵巣嚢胞 1 例), 胆嚢疾患 5 例 (胆石症 3 例, 胆嚢ポリープ 2 例), その他の良性疾患 9 例 (関節リウマチ 1 例, 糖尿病 1 例, 高プロラクチン血症 1 例, 切迫早産 1 例, 類天疱瘡 1 例, 脾仮性嚢胞 1 例, 甲状腺機能亢進症 2 例, 骨嚢胞 1 例) であった。対照として健康人 71 例 (女性 52 名, 男性 19 名, 平均年齢 29 歳, 20~56 歳) を加え, 総計 247 例の血清において TPA を測定した。

## 2. 方法

基礎的検討として, 3 種類の異なる TPA 濃度

の血清を用いて同時および測定間におけるばらつきを検討する再現性試験および, TPA 濃度の異なる血清をキット添付の 0 濃度の標準 TPA 試薬で希釈して測定する希釈試験, ならびに最小感度の検出を行った。そして, 2 種類の既知 TPA 濃度の血清と 50, 100, 300, 2,000 U/l の標準 TPA 試薬を容量比 1:1 の割合で混合し測定する添加回収試験を行った。

血清 TPA の測定はプロリフィゲン TPA-M “第一” キット (第一ラジオアイソトープ研究所, 東京) を使い, キット添付のプロトコルに従い実施した<sup>7)</sup>。簡単に述べると, 標準 TPA 試薬, コントロール試薬, 検体血清または血漿を試験管に 50  $\mu$ l ずつ入れ, 次にヨウ化 TPA 抗体 (<sup>125</sup>I) 試薬 200  $\mu$ l, TPA 抗体付着ビーズ 1 個を添加し室温で 2 時間振盪し, 生理食塩液 2 ml で 3 回洗浄する。その放射エネルギーをウェル型ガンマシンチレーションカウンターで測定し, 標準曲線から検体の TPA 濃度を求めた。

関連する血清サイトケラチン測定用キットとしてプロリフィゲン TPA “第一” II (第一ラジオアイソトープ研究所, 東京), TPSA IRMA キット「メジ」(日本メジフィジックス, 西宮) およびセントコア シフラ IRMA キット (トーレ・フジバイオニクス, 東京) を用いて, また血中 AFP, CEA, CA19-9, CA125 濃度はそれぞれ AFP 栄研 (栄研化学, 東京), CEA 栄研 (栄研化学, 東京), セントコア CA19-9 RIA キット (トーレ・フジバイオニクス, 東京), セントコア CA 125 II IRMA キット (トーレ・フジバイオニクス, 東京) を用いて各血清腫瘍マーカーの値と本キットにより得られた血清 TPA の値を比較検討した。

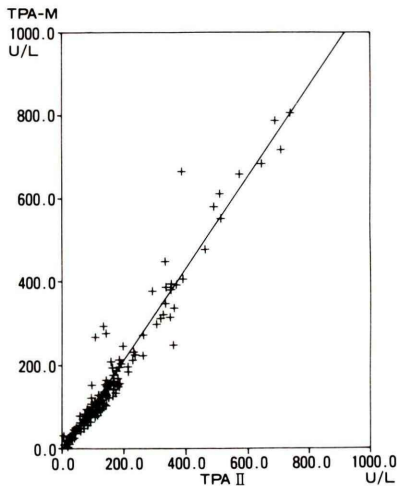
## III. 結果

### 1. 基礎的検討

同時再現性で変動係数 (C.V.) 1.7~3.2% (n=10), 測定間再現性では 1.9~3.8% (n=5) と良好な結果が得られた (Table 1)。希釈試験では Fig. 1 に示すように良好な直線性が確認された。添加回収試験より, 各標準試薬の検体からの平均回収率は

**Table 2** Recovery of TPA added to serum samples measured by TPA-M

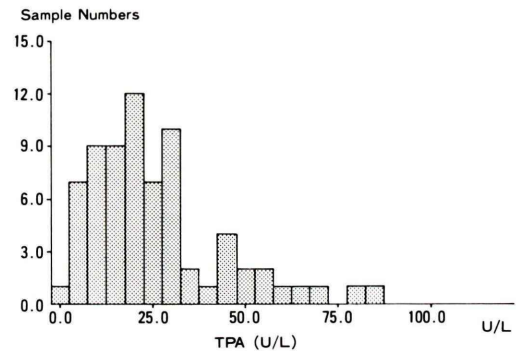
	Added TPA unit (U/l)	Measured (U/l)	Recovered (U/l)	Recovery (%)	Mean recovery (%)
Serum A	0	108.7	—	—	98.3
	50	155.9	47.2	94.4	
	100	208.8	100.1	100.1	
	300	403.5	294.8	98.3	
	2000	2117.8	2009.1	100.5	
Serum B	0	81.3	—	—	95.2
	50	129.8	48.5	97.0	
	100	173.0	91.7	91.7	
	300	363.1	281.8	93.9	
	2000	2040.6	1959.3	98.0	

**Fig. 2** Correlation between TPA-M IRMA assay and TPA-II IRMA.

91.7~100.5%であった (Table 2). 最小検出感度は 0 U/l の標準 TPA 試薬を希釈液として 50 U/l の標準 TPA 試薬を 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5 U/l に希釈して各濃度について 8 回測定し求められた結果, TPA 濃度は 30 U/l まで測定可能と考えられた。

241 検体における TPA-M “第一” キット (Y) と TPA キット “第一” II (X) との相関は良好であった ( $Y=1.1X-11.5$ ,  $r=0.975$ ) (Fig. 2).

TPA と他の腫瘍マーカー測定キットとの相関

**Fig. 3** Distribution of TPA in healthy subjects.

係数 ( $r$ ) を比較検討したところ血中 TPA と血中 シ  
 ンフラは  $r=0.74$  ( $n=138$ ), TPSA は  $r=0.54$  ( $n=66$ ), AFP は  $r=0.39$  ( $n=74$ ), CEA は  $r=0.18$  ( $n=80$ ), CA19-9 は  $r=0.29$  ( $n=38$ ), CA125 は  $r=0.07$  ( $n=21$ ) であった。

## 2. 臨床的検討

### 1) 健常人における血清 TPA 値

健常人 71 名の血清 TPA 値の測定結果 (Fig. 3) は 0~84 U/l の間に分布し, 平均±標準偏差 (Standard Deviation: SD) は  $25.8 \pm 18.1$  U/l であった。平均+2SD は 62 U/l, 平均+3SD は 80.1 U/l であったことから, cut off 値を 70 U/l として検討した。また, 健常人 71 名の中に平均+2SD を超えるものが 4 名 (5.6%), cut off 値 70 U/l を超えるものが 2 名 (2.8%) であった。なお性差, 年齢

Subjects (Positive Ratio)	Serum TPA (U/l)							Mean±SD (U/l)
	5	10	50	100	500	1000	5000	
Normal Subjects (3/71 4.2%)								28.8±18.1
Primary Liver Cancer (27/29 93.1%)								174.3±121.1
Metastatic Hepatic Tumor (12/12 100%)								965.9±1650.1
Primary Lung Cancer (7/8 87.5%)								1197.1±118.1
Metastatic Lung Tumor (6/6 100%)								3657.2±7586.1
Other Primary Malignant Tumor (15/20 75%)								370.1±863.1
Other Metastatic Malignant Tumor (9/10 90%)								677.1±1216.6
Renal Failure (30/36 83.3%)								134.6±80.0
Benign Lung Disease (5/16 31.3%)								60.4±42.3
Benign Hepatic Disease (10/16 62.5%)								98.8±61.7
Benign Gynecologic Disease (1/9 11.1%)								39.4±27.0
Benign Gall Bladder Disease (0/5 0%)								29.2±20.1
Other Benign Disease (4/9 44.4%)								84.9±79.0

Fig. 4 Serum TPA values in 247 subjects including 85 malignant diseases, 91 benign diseases and 71 healthy subjects.

差，喫煙の有無，血清と血漿の比較について有意な差は認められなかった。

#### 2) 各種疾患における血清 TPA 値

対象となった疾患での TPA の陽性率は悪性腫瘍症例全体で 89.4% (76 例/85 例) で，原発性肝細胞癌 93.1% (27 例/29 例)，転移性肝細胞癌 100% (12 例/12 例)，原発性肺癌 87.5% (7 例/8 例)，転移性肺癌 100% (6 例/6 例)，卵巣癌 60% (3 例/5 例)

であった。症例数の少ない検討ではあるが直腸癌 66.7% (2 例/3 例)，胃癌 100% (3 例/3 例)，乳癌 100% (2 例/2 例)，子宮体癌 50% (1 例/2 例)，悪性胸腺腫 100% (1 例/1 例)，悪性リンパ腫 0% (0 例/1 例)，食道癌 100% (1 例/1 例)，脳腫瘍 100% (1 例/1 例)，膵臓癌 100% (1 例/1 例)，リンパ節転移 100% (3 例/3 例)，腹膜転移 100% (2 例/2 例)，転移性骨腫瘍 100% (5 例/5 例) であった。



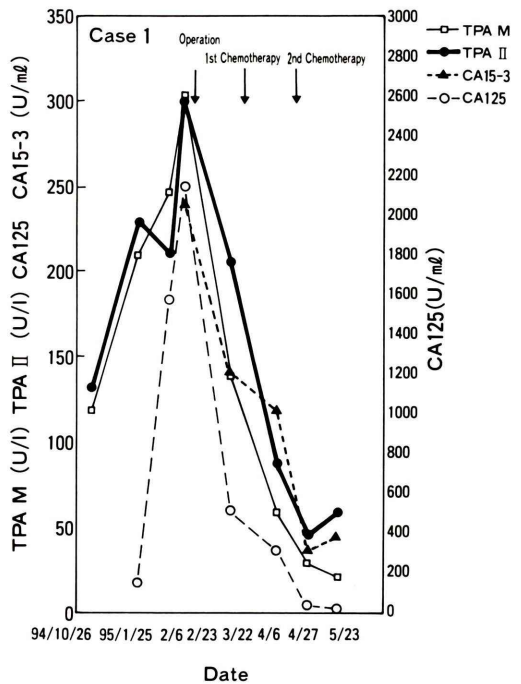


Fig. 5 Time course of serum TPA, CA15-3 and CA125 in a patient with ovarian cancer. (□, serum TPA measured with TPA-M IRMA; ●, serum TPA measured with TPA-II IRMA; ▲, serum CA15-3; ○, serum CA125)

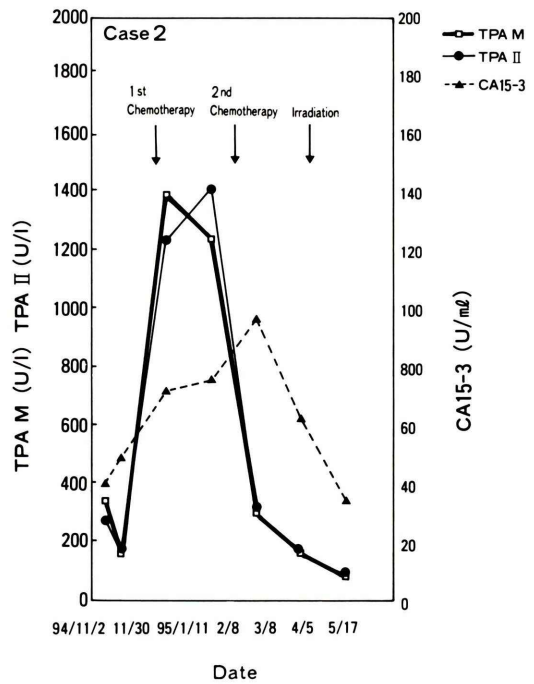


Fig. 6 Time course of serum TPA and CA15-3 in a patient with metastatic bone disease of breast cancer. (□, serum TPA measured with TPA-M IRMA; ●, serum TPA measured with TPA-II IRMA; ▲, serum CA15-3)

一方、良性疾患症例全体では TPA の陽性率は 54.9% (50 例/91 例) で、腎不全 83.3% (30 例/36 例)、肺疾患 31.3% (5 例/16 例)、肝疾患 62.5% (10 例/16 例)、婦人科疾患 11.1% (1 例/9 例)、胆嚢疾患 0% (0 例/5 例)、その他良性疾患 44.4% (4 例/9 例) であった。肝疾患、腎不全で血中 TPA 濃度が比較的高値を示した (Fig. 4)。

### 3) 症 例

悪性腫瘍の治療に伴って血清 TPA 値の減少が認められ、血清 TPA の観察が治療効果の評価で、臨床的に有用であると考えられた 2 症例を呈示する。

#### 症例 1

57 歳女性。左乳癌術後経過 3 年目で、新たに原発性卵巣癌が認められた。血清 TPA 値は 119 U/l から 304 U/l と上昇を示した。付属器および

子宮広範囲切除手術が施行され、その後、血清 TPA 値は 139 U/l に低下した。残存癌が X 線 CT 上認められ、化学療法が併用され、サイクロファスファミド 500 mg、シスプラチン 400 mg、アドリアマイシン 70 mg 施行後、血清 TPA 値は 59 U/l と正常範囲へ低下し、さらに 2 回目の化学療法の後では X 線 CT 上残存癌は縮小を示し、血清 TPA 値は 29 U/l まで低下した。TPA-M IRMA および TPA キット“第一”II で測定された TPA 値はほぼ一致していた。また、CA15-3 および CA125 の経過は TPA のそれとほぼ同じであった (Fig. 5)。

#### 症例 2

37 歳女性。乳癌術後経過 4 年目に腰痛を認め、骨シンチグラフィにて肋骨、胸椎および腰椎に骨転移所見を認め化学療法 (5-FU 540 mg + ファルモ

ルビシン 54 mg + デカトロン 8 mg) が施行された。しかしながら、血清 TPA 値は 1,247 U/l と高値を示した。持続する腰痛等臨床所見は改善を示さず、2 回目の化学療法 (デカトロン 8 mg + ノバトロン 14 mg) が施行された。その後、血清 TPA 値は 305 U/l に低下し、さらに放射線治療が併用され、総線量 40 Gy の時点で腰痛等臨床症状および骨シンチグラフィでの骨病変のトレーサの取り込みも改善を示し、TPA 値も 90 U/l と低下を示した。CA15-3 の経過とくらべて TPA は、比較的早期に低下を認めた (Fig. 6)。

#### IV. 考 察

新しく開発されたプロリフィゲン TPA-M “第一” キットの基礎的検討では、同時再現性試験および測定間再現性試験、希釈試験そして添加回収試験において良好な結果が得られた。現在使用されているプロリフィゲン TPA キット “第一” II とも良好な相関を示し、血清 TPA の測定範囲はこれまでの 2,000 U/l から 4,000 U/l と広がり、臨床検体の希釈頻度が少なくなることが予想される。また、反応時間もこれまでの 2 ステップオーバーナイト法から 1 ステップ 2 時間に短縮され、特にキットの操作性が改善された。

他のサイトケラチン関連腫瘍マーカーキットとの比較ではシフラと相関を認めた。シフラキットも TPA キットもサイトケラチンを認識するが、シフラキットはサイトケラチン 19 を、TPA キットはサイトケラチン 8, 18 および 19 を認識することが報告されている<sup>7)</sup>。

悪性腫瘍全体では 89.4% (76 例/85 例) と高い陽性率を示した。ただし、良性肝疾患や腎不全で血中 TPA 濃度の上昇がみられるのは以前から報告

されているとおりである<sup>4)</sup>。転移性悪性腫瘍例では血清 TPA 値は 96.4% (27 例/28 例) のより高い陽性率を示し、またその濃度は原発性悪性腫瘍の TPA 陽性症例よりも高い傾向にあった。また、症例呈示でも認められたように臨床症状の改善とともに、血清 TPA 値の低下も認められ、臨床血清 TPA の測定は転移性悪性腫瘍診断の一助となりえ、また、治療効果判定のモニタリングマーカーとなりえると考えられた。

#### 文 献

- 1) Björklund B, et al: Tissue polypeptide antigen (TPA); Biology, biochemistry, improved assay methodology, clinical significance in cancer and other conditions, and future outlook. *Antibiotics Chemotherapy* **22**: 16-31, 1978
- 2) Weber K, Osborn M, Moll R, Wiklund B, Lunung B: Tissue polypeptide antigen (TPA) is related to the non-epidermal keratins 8, 18 and 19 typical of simple and non-squamous epithelia; re-evaluation of a human tumor marker. *EMBO J* **3**: 2707-2714, 1984
- 3) 遠藤啓吾, 阪原晴海, 中島言子, 中島鉄夫, 太田仁八, 鳥塚莞爾: Prolifigen RIA キットによる血中 Tissue Polypeptide Antigen (TPA) 濃度の測定: 第 1 編, 基礎的検討. *核医学* **21** (1): 75-81, 1984
- 4) 阪原晴海, 遠藤啓吾, 中島言子, 中島鉄夫, 太田仁八, 鳥塚莞爾: Prolifigen RIA キットによる血中 Tissue Polypeptide Antigen (TPA) 濃度の測定: 第 2 編, 消化器系悪性腫瘍患者における臨床的検討. *核医学* **21** (1): 83-89, 1984
- 5) 西川彰治, 末廣美津子, 石村順治, 福地 稔: Tissue Polypeptide Antigen (TPA) のラジオイムノアッセイに関する基礎的ならびに臨床的検討. *核医学* **21** (1): 94-100, 1984
- 6) 鳥塚莞爾: プロリフィゲン TPA キット “第一” II の臨床応用. *医学と薬学* **20** (1): 65-79, 1988
- 7) 吉川文雄, 石田武利, 小川丈之, 森田敏也, 笠原裕之, 堀川秀次: モノクローナル抗体を用いたプロリフィゲン TPA-M “第一” の基礎的検討. *医学と薬学* **34** (4): 749-757, 1995

## Summary

### A Basic and Clinical Evaluation of a New Immunoradiometric Assay Kit for Human Serum Tissue Polypeptide Antigen (TPA)

Keiko SHIMOJO\*, Naoyuki WATANABE\*, Saori SAKAI\*, Marie KOBAYASHI\*, Hidenori OHTAKE\*, Noboru HATORI\*, Kazuhiro FUKASAWA\*\*, Katsumi TOMIYOSHI\*\*\*, Tomio INOUE\*\*\* and Keigo ENDO\*\*\*

*\*Division of Diagnostic Nuclear Medicine, Gunma University School of Medicine*

*\*\*Tano General Hospital*

*\*\*\*Department of Nuclear Medicine, Gunma University School of Medicine*

A new immunoradiometric assay kit (IRMA) of human serum tissue polypeptide antigen (TPA) based on combination monoclonal antibodies was evaluated. Using a new TPA-IRMA, the procedure of TPA measurement was faster and the range of measurement was more wide than a conventional TPA-IRMA. 89% (76/85 cases) of patients with malignant tumor and 96.4% (27/28) of patients with metastatic malignant

tumor were positively detected.

This assay of new TPA-M kit is sensitive to the level of serum TPA which is corresponding to a therapy.

It is concluded that a new TPA-IRMA is very useful in monitoring and assessing malignant tumors.

**Key words:** Monoclonal antibodies, TPA, IRMA.